

· 临床研究 ·

慢性激光刺激对人体衰老相关指标的影响*

唐刚, 司良毅[△]

(第三军医大学西南医院老年科, 重庆 400038)

摘要:目的 了解慢性激光刺激对人体衰老相关指标的影响。方法 将 168 名某激光研究所人员按是否进行激光作业分为暴露组($n=90$)和非暴露组($n=78$)。采用固相夹心法酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血浆 Klotho 蛋白含量,采用比色法检测红细胞超氧化物歧化酶(SOD)活力及丙二醛(MDA)浓度,采用流式荧光原位杂交(Flow-FISH)检测淋巴细胞端粒长度。结果 暴露组及非暴露组人员血浆 Klotho 蛋白水平、红细胞 MDA 浓度、淋巴细胞端粒长度的差异无统计学意义($P>0.05$);多元回归分析显示血浆 Klotho 蛋白、红细胞 SOD 与 MDA、淋巴细胞端粒长度与激光暴露无明显相关,亚组分析显示暴露组中吸烟人员的红细胞 SOD 浓度明显低于非暴露组($P<0.05$)。结论 慢性激光刺激对衰老相关指标无直接影响,但可能导致吸烟人员红细胞 SOD 浓度降低。

关键词:激光;衰老;超氧化物歧化酶;丙二醛;端粒

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.02.008

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)02-0146-03

Effects of chronic laser stimulation on human aging-related indicators*

Tang Gang, Si Liangyi[△]

(Department of Gerontology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To understand effects of chronic laser stimulation on human aging-related indicators. Methods 168 staffs in a certain laser institute were divided into exposed group($n=90$) and non-exposed group($n=78$) according to whether or not participating laser job. Solid-phase sandwich enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) was used to detect plasma Klotho protein content, colorimetric detection was employed to measure erythrocyte superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde(MDA) concentration, and flow fluorescence in situ hybridization (Flow-FISH) was adopted to test length of telomere in lymphocyte. Results Between exposed group and non-exposed group, differences of plasma Klotho protein level, erythrocyte MDA concentration and lymphocyte telomere lengths were not statistically significant($P>0.05$). According to multiple regression analysis, plasma Klotho protein, erythrocyte SOD and MDA, lymphocyte telomere length showed no correlation with laser exposure. Subgroup analysis demonstrated that concentrations of erythrocyte SOD of smoking staffs in exposed group were markedly lower than those in non-exposed group($P<0.05$). Conclusion Chronic laser stimulation has no direct effects on aging-related indicators, but may lead to decreasing erythrocyte SOD concentration in smoking person.

Key words: lasers; aging; superoxide dismutase; malondialdehyde; telomere

急性激光刺激可造成人体视觉器官、神经系统、生殖系统及心血管系统等的损害^[1-4],这一现象已被公认。而慢性激光刺激引起的机体损害发生较隐匿,目前人们对它的重视不够^[5]。研究慢性激光刺激对机体的影响可对激光作业工作人员的职业防护提供帮助。本研究拟对某激光研究所工作人员进行检测,以了解慢性激光刺激对人体衰老相关指标的影响,为慢性激光刺激的防治工作提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 资料来自某激光研究所 2011 年 4 月参加健康体检的全部工作人员,共 198 例,其中,男 125 例,女 73 例;平均年龄(45.1 ± 11.5)岁。排除:(1)年龄小于 40 岁;(2)有饮酒史;(3)患有慢性阻塞性肺疾病、高血压、冠状动脉粥样硬化性心脏病、糖尿病、骨质疏松症(经双光子骨密度仪检测证实股骨三角 T 值小于 2.5)等常见老年器质性疾病者,共入选 168 例,按照是否进行激光作业将其分为暴露组($n=90$)和非暴露组($n=78$)。

1.2 病史采集及实验室检查 体检时记录受检者吸烟史,测

量身高、体质量,计算身体质量指数(body mass index, BMI)。清晨空腹抽血 4 mL,采用 OLYMPUS AU2700 全自动生化分析仪检测血糖、三酰甘油、总胆固醇、肌酐。根据 WHO 1984 年关于吸烟调查方法标准的建议,每天吸烟 1 支以上,吸烟时间超过 1 年者为有吸烟史。

1.3 衰老相关指标的检测 抽取静脉血 8 mL,分离血浆、红细胞及淋巴细胞。采用固相夹心法酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血浆 Klotho 蛋白含量,采用比色法检测红细胞超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力及丙二醛(malondialdehyde, MDA)浓度,采用流式荧光原位杂交(flow fluorescence in situ hybridization, Flow-FISH)检测淋巴细胞端粒长度,按试剂盒说明书的标准操作流程进行操作。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,计数资料采用百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,经正态性检验后组间比较采用 t 检验。以年龄、吸烟指数、BMI 为协变量校正后,比较暴露组与非暴露组人员各

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81000132)。 作者简介:唐刚(1980~),硕士研究生,主要从事人体衰老机制的研究。 △ 通讯作者, Tel: (023)68754150; E-mail: doctorsly@126.com。

表 1 暴露组与非暴露组人员基线资料的比较

组别	n	年龄(岁)	男性[n(%)]	吸烟指数(年支)	血糖(mmol/L)	三酰甘油(mmol/L)	总胆固醇(mmol/L)	肌酐(μ mol/L)
暴露组	90	44.90 \pm 11.10	63(70.00)	110 \pm 48.20	5.33 \pm 0.70	1.95 \pm 0.90	4.95 \pm 1.02	71.30 \pm 18.00
非暴露组	78	45.40 \pm 10.10	52(66.70)	165 \pm 45.50	5.46 \pm 0.83	2.06 \pm 1.01	5.11 \pm 1.20	73.30 \pm 16.70
P		0.001	0.151	0.017	0.172	0.344	0.687	0.226

表 2 暴露组与非暴露组人员衰老指标的比较

组别	n	血浆 Klotho 蛋白(ng/mL)	红细胞 SOD(U/g)	红细胞 MDA(nmol/mL)	淋巴细胞端粒长度
暴露组	90	17.51 \pm 9.72	102.19 \pm 3.91	2.33 \pm 0.12	622.3 \pm 13.32
非暴露组	78	18.22 \pm 9.51	121.72 \pm 3.12	2.31 \pm 0.16	621.6 \pm 12.29
P		0.662	0.048	0.766	0.898

表 3 临床因素及慢性激光暴露对衰老相关指标的影响

影响因素	血浆 Klotho 蛋白		红细胞 SOD		红细胞 MDA		淋巴细胞端粒长度	
	b	P	b	P	b	P	b	P
年龄	-0.009	0.472	-0.164	0.028	0.134	0.016	0.177	0.045
男性	-0.050	0.032	-0.041	0.029	-0.195	0.001	0.105	0.006
吸烟指数	0.239	0.065	-0.205	0.045	-0.172	0.011	0.149	0.055
血糖	0.001	0.053	0.050	0.995	0.129	0.039	-0.011	0.841
甘油三酯	0.028	0.034	0.239	0.778	0.228	0.126	0.199	0.070
总胆固醇	-0.02	0.455	0.130	0.655	0.095	0.535	0.107	0.096
肌酐	-0.164	0.271	0.062	0.475	0.031	0.343	0.051	0.333
慢性病史	0.028	0.741	0.035	0.366	-0.047	0.247	-0.130	0.655
激光暴露	0.017	0.255	0.006	0.123	0.064	0.559	0.016	0.770

衰老指标的差异。采用多元回归分析法预测影响衰老的因素,评价激光暴露对衰老的影响,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 基线资料 暴露组与非暴露组人员除年龄、吸烟指数外,性别、血糖、三酰甘油、总胆固醇及肌酐的差异均无统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 暴露组与非暴露组人员衰老指标的比较 暴露组及非暴露组人员血浆 Klotho 蛋白、红细胞 MDA 浓度、淋巴细胞端粒长度的差异无统计学意义($P > 0.05$),但暴露组人员中红细胞 SOD 明显低于非暴露组($P < 0.05$),见表 2。

表 4 红细胞 SOD 亚组分析

影响因素	红细胞 SOD(U/g)		P
	激光暴露组	非暴露组	
年龄			
<45 岁	123.29 \pm 2.77	127.15 \pm 2.52	0.520
\geq 45 岁	116.25 \pm 3.42	117.92 \pm 3.72	0.477
性别			
男	124.35 \pm 2.98	123.11 \pm 2.81	0.355
女	101.30 \pm 3.91	102.62 \pm 4.16	0.322
吸烟指数			
<60 年支	131.44 \pm 3.51	129.51 \pm 3.70	0.298
\geq 60 年支	78.32 \pm 3.17	85.72 \pm 4.12	0.018

2.3 多元回归分析 以年龄、吸烟指数、血糖、三酰甘油、总胆固醇、肌酐、慢性病史作为协变量,进行多元回归分析,结果显示血浆 Klotho 蛋白与性别相关,红细胞 SOD 与年龄、性别、吸

烟指数相关,红细胞 MDA 与年龄、性别、吸烟指数、空腹血糖相关,淋巴细胞端粒长度与年龄、性别相关,而上述衰老指标均与激光暴露无明显相关,见表 3。

2.4 红细胞 SOD 亚组分析 根据性别、年龄、吸烟指数的中位数对红细胞 SOD 进行亚组分析,结果显示暴露组中吸烟不低于 60 年支人员的红细胞 SOD 浓度明显低于非暴露组,见表 4。

3 讨 论

通过横断面研究,分析了某激光研究所工作人员激光暴露对其衰老相关指标的影响。其中 Klotho 蛋白是 Klotho 基因的表达产物,动物实验表明它具有抗衰老效应,随着年龄的增长,血浆中的 Klotho 蛋白含量逐渐下降,而上调 Klotho 基因表达可起到抗衰老的作用,是新发现的反映机体衰老的指标^[6-8]。SOD 是体内清除自由基的关键酶,检测 SOD 活性高低,可间接反映机体清除自由基的能力^[9-11]。MDA 是自由基攻击生物体的降解产物,MDA 生成的多少可间接反映组织的损伤程度^[12-13]。端粒是真核细胞内染色体末端的 DNA 重复片断,由富含 G 的核酸重复序列和许多蛋白质组成。在有机体中,端粒 DNA 的长度总是随着外界环境而波动变化的,随着细胞的持续分裂,端粒会缓慢缩短。端粒的长度决定了细胞的生命,端粒的长度随年龄增长而不断缩短^[14-15]。

本研究显示激光暴露对衰老相关的血浆 Klotho 蛋白、红细胞 MDA 浓度、淋巴细胞端粒长度无明显影响,但暴露组人员红细胞 SOD 较非暴露组低,校正年龄、性别、吸烟指数等危险因素后,激光暴露对红细胞 SOD 未见明显影响。亚组分析显示吸烟人群在激光暴露时,红细胞 SOD 浓度明显低于非暴露者,提示吸烟人群可能更易受到激光的慢性损伤。

吸烟可引起多种临床疾病,而且与多种疾病易患因素有叠加作用。激光作为一种慢性刺激,对人体的损伤也受到遗传和环境等多因素影响。本研究虽未发现慢性激光刺激对人体衰

老相关指标的直接影响,但亚族分析显示吸烟人群的红细胞 SOD 浓度较非吸烟人群更低,提示戒烟可能对减少激光慢性损伤有一定意义,但其机制需要进一步研究证实。

本研究的不足之处在于研究人群样本量偏少,难以获得更有说服力的结论,需要在更大样本的人群中进行研究。激光对人体造成的危害为非特异性损害,选择更有代表性的评价指标是当前所面临的一个难题,本研究选择的抗衰老指标可能敏感度不够,寻求更加敏感的监测指标将有利于慢性激光刺激的防治。

参考文献:

- [1] Rinaldi F. Laser; a review[J]. *Clin Dermatol*, 2008, 26(6): 590-601.
- [2] Chen CJ, Cheng FC, Liao SL, et al. Effects of naloxone on lactate, pyruvate metabolism and antioxidant enzyme activity in rat cerebral ischemia/reperfusion[J]. *Neurosci Lett*, 2000, 287(2): 113-116.
- [3] Barbanel CS, Ducatman AM, Garston MJ, et al. Laser hazards in research laboratories[J]. *J Occup Med*, 1993, 35(4): 369-374.
- [4] Allen LE, Luff AJ, Canning CR. Survey of colour contrast sensitivity in non-ophthalmic users of blue-green wavelength argon lasers[J]. *Br J Ophthalmol*, 1995, 79(4): 332-334.
- [5] Senoz O, Nazmibarhan C, Sahinalagoz M, et al. Long-term results of ultrapulsed Carbon dioxide laser resurfacing of the Mediterranean face[J]. *Aesthetic Plast Surg*, 2004, 28(5): 328-333.
- [6] Forster RE, Jurutka PW, Jui-Cheng H, et al. Vitamin D receptor controls expression of the anti-aging klotho gene in mouse and human renal cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 414(3): 557-562.
- [7] Turan K, Ata P. Effects of intra-and extracellular factors on anti-aging klotho gene expression[J]. *Genet Mol Res*,

2011, 10(3): 2009-2023.

- [8] Dwight CG, Khobahy I, Pastor J, et al. Nuclear localization of Klotho in brain: an anti-aging protein[J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(7): 1483-1483.
- [9] Xia H, Suda S, Bindom S, et al. ACE2-mediated reduction of oxidative stress in the central nervous system is associated with improvement of autonomic function[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22682.
- [10] Zori C, Colak E, Canadanovi C, et al. Oxidation stress role in age-related cataractogenesis[J]. *Med Pregl*, 2010, 63(7/8): 522-526.
- [11] Cheng Q, Gu J, Compaan KR, et al. Hydroxyl radical reactions with adenine: reactant complexes, transition states, and product complexes[J]. *Chemistry*, 2010, 16(39): 11848-11858.
- [12] Li RG, Bin C, Gang W, et al. Effects of mechanical strain on Oxygen free radical system in bone marrow mesenchymal stem cells from children[J]. *Injury*, 2011, 42(8): 753-757.
- [13] Dmitriev LF, Titov VN. Lipid peroxidation in relation to ageing and the role of endogenous aldehydes in diabetes and other age-related diseases[J]. *Ageing Res Rev*, 2010, 9(2): 200-210.
- [14] Rhee YH, Ko JY, Chang MY, et al. Protein-based human iPS cells efficiently generate functional dopamine neurons and can treat a rat model of Parkinson disease[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(6): 2326-2335.
- [15] Zekry D, Krause KH, Irminger-finger I, et al. Telomere length, comorbidity, functional, nutritional and cognitive status as predictors of 5 years post hospital discharge survival in the oldest old[J]. *J Nutr Health Aging*, 2012, 16(3): 225-230.

(收稿日期: 2012-10-12 修回日期: 2012-12-02)

(上接第 145 页)

- measurements[J]. *Pacing Clin Electrophysiol*, 2000, 23(11 Pt 2): 1762-1766.
- [7] Xiao SZ, Guo XM, Wang F, et al. Evaluating two new indicators of cardiac reserve[J]. *IEEE Eng Med Biol Mag*, 2003, 22(4): 147-162.
- [8] 马康华, 葛平, 雷寒, 等. 心肌收缩能力变化趋势与最大弹性模量的对照研究及其临床应用[J]. *重庆医学*, 2005, 34(4): 571-573.
- [9] 刘天虎, 刘剑雄, 肖守中, 等. 心脏储备指数和 LVEF 量化心功能分级的相关性研究[J]. *四川医学*, 2005, 26(11): 12-13.
- [10] Abe M, Tomiyama H, Yoshida H, et al. Diastolic fractional flow reserve to assess the functional severity of moderate coronary artery stenoses: comparison with fractional flow reserve and coronary flow velocity reserve[J]. *Circulation*, 2000, 102(19): 2365-2370.
- [11] Xiao S, Guo X, Sun X, et al. A relative value method for

measuring and evaluating cardiac reserve[J]. *Bio Medical Eng Online*, 2002, 1(1): 6.

- [12] 邵勇, 张英红, 漆洪波, 等. 子痫前期孕妇心脏储备功能变化与妊娠结局[J]. *中华妇产科杂志*, 2009, 44(10): 736-739.
- [13] Xie M, Xiao S, Liu T, et al. Multi-center, multi-topic heart sound databases and their applications[J]. *J Med Syst*, 2012, 36(1): 33-40.
- [14] Guyatt GH, Sullivan MJ, Thompson PJ, et al. The 6-minute walk: a new measure of exercise capacity in patients with chronic heart failure[J]. *Can Med Assoc J*, 1985, 132(8): 919-923.
- [15] Bittner V. Determining prognosis in congestive heart failure: Role of the 6-minute walk test[J]. *Am Heart J*, 1999, 138(4): 593-596.

(收稿日期: 2012-09-07 修回日期: 2012-12-02)